

センドイウイルスに対するマクロファージの特異的な免疫：細胞親和性抗体とセンドイウイルスによる試験管内でのマクロファージの集合

著者	渡辺 元裕
号	781
発行年	1975
URL	http://hdl.handle.net/10097/19071

氏 名 (本 籍) わた なべ もと ひろ
渡 辺 元 裕

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 博 第 7 8 1 号

学位授与年月日 昭 和 5 0 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当

研究科専門課程 東北大学大学院医学研究科
(博士課程) 病理学系専攻

学 位 論 文 題 目 Specific macrophage immunity to Sendai virus: Macrophage aggregation in vitro with Sendai virus by cytophilic antibodies.
(センダイウイルスに対するマクロファージの特異的な免疫: 細胞親和性抗体とセンダイウイルスによる試験管内でのマクロファージの集合)

(主 査)

論文審査委員 教授 石 田 名 香 雄 教授 山 根 績

教授 橘 武 彦

論文内容要旨

目 的

ウィルス初回感染の回復機構と、再感染に対する防禦機構とを区別することは重要である。一般に、免疫動物には体液免疫と細胞性免疫の両者が生じ、それぞれの重要性を別々に評価する事は難かしい。しかし、近年免疫担当細胞（T細胞，B細胞，マクロファージ）の性格が明らかになるにつれ、個々の細胞集団での解析あるいはその組み合わせによって、再感染の防禦機構を解析していく方法が行われつつある。私はウィルスの感染防禦におけるマクロファージの役割に注目し、パラミクソウィルスである Sendai virus の感染及びその免疫機序を解析する目的で、家兎肺胞マクロファージ-Sendai virus の系を取り上げ、Sendai virus 免疫家兎より得たマクロファージ（以下免疫Mφ）と正常家兎より得たマクロファージ（以下正常Mφ）の *in vitro* での Sendai virus に対する反応性を比較検討した。

実 験 結 果

両Mφでの細胞生存率を0.5% trypan blueを用いdye exclusion法により経時的に観察した処、非感染及びmoi 5の感染では、著しい減少はみられないが、moi 50以上の感染では、両Mφ共に同じ傾向で生存細胞が経時的に減少した。さらに、その経過中、赤血球吸着反応、蛍光抗体染色法によるウィルス抗原合成を観察した処、抗原合成細胞数は正常Mφの方が高いという結果が得られた。またMφは、moi 50以上でないと感染が成立しない事から、他の組織培養細胞（L, HeLa, RK-13 etc）とは異なり感染効率が著しく悪い事が判る。次に、感染性粒子の産生をLLC-MK₂細胞を用いてプラーク法で調べた処、どちらのMφでも培養上清及び細胞内の感染価は経時的な減少を示した。この事から、Sendai virusはMφ内でabortive infectionを行っているものと思われる。さらに、Sendai virus感染により惹き起されたもう一つの反応性の違いとして、免疫Mφに限り、感染数時間後から凝集する様になり、24時間後に反応がピークに達した。そこで、この免疫Mφでのaggregation反応を惹き起すSendai virusの条件を検討した処、無処理のSendai virus, UV照射Sendai virusでは反応は、moiの大きさに比例して進行するが、エーテルで可溶化したSendai virus (envelopeのHA, NA活性を有する)では起きなかった。これらの事から、この反応が抗原の粒子の形態に関連があるものと解釈される。さらにこの反応に対するトリプシンと抗Sendai virus家兎血清の作用を検討した。初めに、FITCでラベルした抗家兎 γ -globulinヤギ血清を用いて、Vital stainingによってCytophilic抗体を除去しうるトリプシン処理の条件を検討した。未処理のMφはvital stainingによって特異的なpatchy patternの蛍光染色像を呈したが、0.05%のトリプシンを用い37°Cで20分間反応させたMφでは、それらの像は示さなかった。そこで、正常Mφをトリプシン処理後、抗Sendai virus家兎血清あるいは正常家兎血

清を10%含んでいる培地(RPMI-1640)で24時間培養を行い、さらにmoi50で感染させたら、抗Sendai virus家兎血清で培養したものは反応が起った。同様にトリプシン処理した免疫Mφで、正常家兎血清を含んだ培地で培養した場合には、反応は起らなかった。また受動免疫家兎(Mφ採集する24時間前に正常家兎にHI-titerが2000のSendai virus免疫家兎血清50 ml 静注したもの)から得たMφをトリプシン処理せずmoi50で感染させても反応は起った。これらの現象は、Sendai virusに対する抗体がMφのCytophilic抗体の大部分を占領し、このMφにin vitroでSendai virusを反応させると、Sendai virusが橋渡しし、Mφ aggregation反応が起るものと考えられる。そこで、上述の仮説に立って、免疫MφのCytophilic抗体がSendai virusに対して特異的であるかどうかという事を検討した。Holtzerの方法(1968)に従い、 2×10^7 個のMφを 56°C 、30分間熱処理して溶出したCytophilic抗体のSendai virusとNDVに対する中和活性を調べた処、免疫Mφから溶出したCytophilic抗体はSendai virusに対して、正常Mφのものに比べより高い(約33倍)中和活性を示したが、NDVに対しては共に陰性であった。熊谷ら(1974)は、B細胞をPH4.0で処理する事によってCytophilicなIgGあるいはIgAを解離させる事が出来、しかもreceptorがintactである事を報告している。この反応を、Mφ aggregation反応及びPH4.0処理で解離したCytophilic抗体のSendai virusに対する中和活性を調べるのに応用した処、Mφ aggregation反応ではトリプシン処理と同じ結果が得られた。さらに、PH4.0処理で解離したCytophilic抗体をPhosphate bufferに透析してPHを中性に調整後、Sendai virusに対する中和活性を調べた処、免疫Mφのものは、正常Mφに比べ高い中和活性(約4.3倍)を示し、熱処理で溶出したCytophilic抗体の結果と同じ傾向を示した。

考 察

免疫Mφでは、正常Mφに比べ、2つの異った反応すなわち1)抗原合成細胞数の減少、2)Mφ aggregation反応、が観察された。1)の原因については、過去多くの研究者によってさまざまな説明がなされている。それらはi) Cellular Immunityの獲得。ii) Interferon産生の増強。そして iii) 現在まで正体不明の細胞内の機構などである。この論文では細胞内因子の検索は殆んど行っていないが、免疫Mφでの抗原合成の抑制の機構に、細胞外の因子であるCytophilic抗体の関与を示唆するdataが得られた。さらに2)の抗原特異的なMφ aggregation反応は、過去、Lolekha等(1970, 1971)、Hsu等(1973)及びGalindo等(1972, 1974)によって同様の現象が観察されている。そして、それらがリンパ球からのmediator(Mφ Aggregation,あるいはMφ Fusion Factor)によるもの(Lolekha等及びGalindo等)と、Cytophilic抗体による(Hsu等)Mφ aggregation反応の2種類があると報告されている。ここで観察したaggregation反応は、100% phagocytosisを行う系であるので、リンパ球の関与は考えられないし、またトリプシン処理及びPH4.0処理の実験結果から、Hsu等の観察したものと同質と思われる。そしてこのin vitroでの反応に関与しているCytophilic抗体が、in vivoにおいてどのような働きを行っているかを知る事が、今後の課題である。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文は Sendai virus で hyperimmune した家兎から得た肺胞マクロファージ (M ϕ) を試験管内で培養し, Sendai virus を感染させると蛍光抗体法で検出し得る抗原合成過程やヘモアドソープションの出現がはるかに正常のM ϕ の感染の時のそれらに比べて低下している事実に気付き, その解明を求めたものである。結論は明解で cytophilic antibody がM ϕ の表面に吸着しているためであった。

試験管内で免疫M ϕ にウイルスを感染させると, ウイルス量に応じてM ϕ は凝集あるいは細胞融合を起す。正常M ϕ ではこの様な反応は起らない。この免疫M ϕ をトリプシン処理あるいは加熱 (56°~30')あるいはpH4.0のメジウムで培養するとウイルスを加えてももはや凝集や融合を起さなくなる。しかも上記処理で中和抗体がメジウム中に溶出されてくる。更にこれらの処理を経たM ϕ でも, 正常のM ϕ でも, Sendai virus に対する抗体と共に培養すると Sendai virus を加えると凝集や融合を起すようになる。この Sendai virus はUV不活化したものをを用いても同様な反応が起きることより, 感染性をもった粒子である必要はない。以上結核菌についてすでに認められていたM ϕ -表面の cytophilic antibody-抗原添加→M ϕ の凝集乃至融合という反応システムが Sendai virus で同様に起る事が確証された。

以上本論文は学位持与に値するものと認める。